

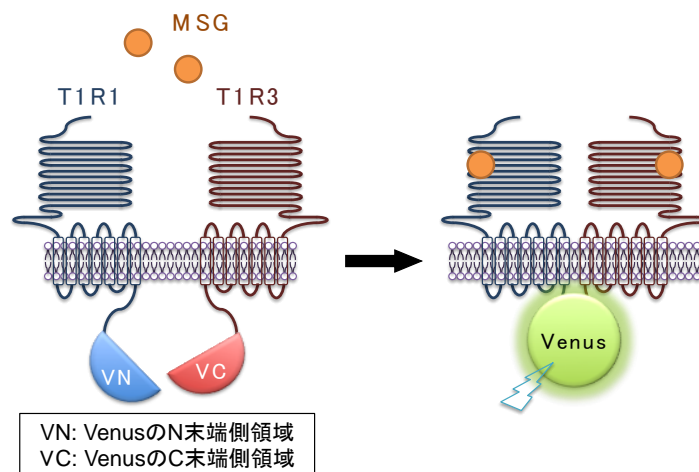
## ヒト T1R1/T1R3 のヘテロ二量体化を指標にしたうま味評価法の開発

井上 和彦

和歌山信愛女子短期大学 生活文化学科 食物栄養専攻

うま味は味細胞に発現する特異的な受容体にうま味物質が結合することで、「味」として認識される。そのため、受容体の活性を指標にすることで、うま味物質の判別や強度などを評価できる。うま味の受容体(T1R1/T1R3)はGタンパク質共役型受容体(G protein-coupled receptor: GPCR)なので、細胞内カルシウムイオン濃度などのセカンドメッセンジャーを指標に、受容体の活性を測定できる。しかしながら、うま味のシグナルはうま味物質がT1R1とT1R3のヘテロ二量体に結合した時のみ伝播するため、正確にうま味のシグナルを測定するためには、T1R1とT1R3がそれぞれホモ二量体を形成した場合など、他の要因でセカンドメッセンジャーが変化する状況を排除する必要がある。そこで本研究では、うま味物質がT1R1/T1R3ヘテロ二量体に結合した状態を特異的に検出するシステムを構築し、新規うま味評価法の開発を目指した。

蛍光タンパク質 Venus を分断すると、蛍光を発しなくなる。しかしながら、分断したタンパク質断片(N末端側領域とC末端側領域)が近接すると、Venusの立体構造が再構築されて蛍光を発する。この原理(Bimolecular fluorescence complementation (BiFC))の応用を試みた(下図)。



具体的には次の2つを計画し、実施した。

- 1) ヒト T1R1 の C 末端に Linker 配列と Venus の N 末端側領域を結合したタンパク質、ヒト T1R3 の C 末端に Linker 配列と Venus の C 末端側領域を結合したタンパク質をそれぞれコードする遺伝子を作製し、細胞に遺伝子導入する。
- 2) グルタミン酸ナトリウム (MSG) を添加し、蛍光顕微鏡で観察し、マイクロプレートリーダーでの蛍光強度を測定する。